Beitrag zur Kenntnis ruhrähnlicher Bakterien.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der Hohen Philosophischen Fakultät

der

Vereinigten Friedrichs-Universität Halle-Wittenberg

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

vorgelegt von

Otto Gehrmann
Braunsberg (Provinz Ostpreußen).

◆◆◆

Halle (Saale)
Buchdruckerei Hohmann
1918.

IV M

Referent: Prof. Dr. G. Karsten.

Dem Andenken meines Vaters!

Der Ruhr ist in diesem Kriege die größte Aufmerksamkeit geschenkt worden, und der Arzt, besonders auch der Bakteriologe hatte Gelegenheit, diese Krankheit auf breiter Grundlage zu studieren und zu erforschen.

Die vor dem Kriege als Ruhrreger erkannten Bakterien konnten auch während des Feldzuges immer wieder aus den Darmentleerungen Ruhrkranker gezüchtet werden.

Andererseits stößt der sorgsame Beobachter doch auch öfters auf Stämme, bei deren abweichendem kulturellen oder serologischen Verhalten es schwierig ist zu entscheiden, ob echte bezw. Pseudodysenteriebazillen vorliegen.

Es entsteht daher die Frage, ob diese abweichenden Formen ätiologisch für die Ruhr mitverantwortlich zu machen sind.

Mitzuhelfen bei Klärung dieser Frage sollte Aufgabe dieser Arbeit sein, deren Anregung ich Herrn Oberarzt d. R. Dr. R. Hamburger verdanke.

Literatur.

Bisher sind atypische Ruhrstämme, also inagglutinable, schwer agglutinable und ruhrähnliche Bakterien wenig beachtet worden. Selbst in den Kapiteln über Ruhr in den großen Werken von Kolle-Wassermann[1]), Kolle-Hetsch[2]) und „Die

Bazillenruhr“ von Lüdke[3]) finden sie nur geringe Berücksichtigung oder sind gar nicht erwähnt.

Porges[4]) erklärt die Inagglutinabilität durch eine Veränderung des Bakterienproteins, die die Ausflockung verhindert, die aber durch teilweisen Abbau des veränderten Proteins aufgehoben werden kann. Dieser Abbau des hemmenden Proteins erfolgt nach Porges durch einstündiges Erhitzen auf 100° in neutraler, auf 80° in saurer Lösung und nachfolgender Neutralisation.

Diese Aufschließung der Bakterien mittels Kochen verwandten Hamburger und Bauch[5]) bei Auffinden von inagglutinablen Ruhrkeimen zur Diagnose. Sie beschreiben inagglutinable Shiga-Stämme, die sie durch einstündiges Kochen im Dampftopf voll agglutinabel machen konnten. Diese Stämme erhielten auch durch wiederholte Agarpassagen ihre volle Agglutinabilität, ferner erwiesen sie sich als hochtierpathogen. So wurde nachgewiesen, daß es sich um echte Ruhrerreger handele, und daß vermittels der „Kochagglutination“ eine schnelle Diagnose bei solchen fraglichen Stämmen möglich ist. Andere Stämme, die kulturell als Ruhrkeime vom Typus Shiga-Kruse angesprochen werden mußten, ließen sich auch nach Kochen in keine der bekannten Gruppen einreihen, vermochten auch nicht Shiga-Kruse-Agglutinine zu binden. Einer davon erwies sich als nicht mannitsäuernder Pseudostamm. Der Rest fiel durch seine mangelnde Tierpathogenität und Mangel an Toxinbildung auf.

Eingehende Studien über ruhrähnliche Stämme hat Seligmann[6]) gemacht. Er tritt für eine Entwicklung der Ruhrerreger aus der gewöhnlichen Darmflora ein. Eine ganze Reihe solcher „Uebergangsformen“ hat er während der Ruhrperiode festgestellt und näher beschrieben. Es waren darunter typische Kruse- und Flexner-Bazillen, sehwer oder inagglutinable Stämme und solche, die sich serologisch nicht einordnen ließen. Die schwach und inagglitunablen Stämme wurden später durch häufiges Ueberimpfen vollwertig, ihre Immunsera waren den agglutinierenden Seris der Kruse- und Pseudo-

Teststämme gleichzusetzen. Die übrigen atypischen Stämme lieferten Immunsera, durch die nur die homologen Stämme allein, allenfalls bekannte typische Vertreter der betreffenden Ruhrgruppe in niederer Verdünnung ausgeflockt wurden. Daraus schließt Seligmann, daß dieses Uebergangsformen seien.

Die Annahme, daß es solche Uebergangsformen zwischen den einzelnen Bakteriengruppen gibt, ist natürlich nicht von der Hand zu weisen, analog dem Entwicklungsgang der höheren Tier- und Pflanzenwelt; doch muß man bei dieser Diagnose stets die größte Vorsicht walten lassen. Täuschungen durch Paragglutinatio resp. Parawidal sind gerade bei diesen Stämmen leicht möglich, da solche Keime durch das Zusammenleben mit echten Ruhrbazillen ihren Rezeptorenapparat der pathogenen Bakterienrasse anpassen können, wie verschiedentlich nachgewiesen ist[7])

Leider erst kurz vor Beendigung meiner Arbeit wurden mir die neueren Berichte von Kruse[8]) und Schmitz[9])[10]). zugänglich. Doch habe ich deren Ergebnisse noch in meine Arbeit einbeziehen und meinen Resultaten gegenüberstellen können.

Kruse isolierte bei einer Ruhrendemie etwa 50 ruhrähnliche Stämme. Sie zersetzen zum Teil Mannitzucker, bilden Indol, sind wenig giftig und werden von den gebräuchlichen Immunseris nicht agglutiniert, gehören auch nicht in die Gruppen A—H. Er nennt die neue Rasse I und hebt als besonderes Charakteristikum hervor, daß diese Stämme nicht imstande sind, im Tier- und Menschenkörper eigene Agglutinine zu bilden. Die neue Rasse ist als solche also vorläufig nur durch Ausschluß anderer Rassenmerkmale zu erkennen

Diese Beobachtung Kruse's, die für Vertreter der Typhus-Coli-Gruppe etwas eigenartiges ist, — falls es sich um wahre Krankheitserreger handelt, — muß bestätigt werden, da auch wir keine Agglutinine gegen diese Keime im Blute ihrer Träger feststellen konnten. Dagegen gelang es, beim Tier durch Immunisierung Agglutinine zu erzeugen, wenn auch

nur in geringem Umfange gegen die nativen Stämme. Ein ganz anderes Gesicht erhält die Bewertung des Titers erst dann, wenn man statt der nativen Bakterien gekochte Stämme verwendet.

Wie meine Ausführungen zeigen werden, ergeben sich aus diesem abweichenden Verhalten des Serums gegenüber gekochten und ungekochten Bakterien eine Reihe höchstinteressanter Fragen, bei deren Klärung neue und wichtige Resultate gewonnen werden konnten.

Diesen unsern übereinstimmenden Ergebnißen stehen die Angaben von Schmitz entgegen, der einen positiven Widal bei den Erkrankten gegen die isolierten fraglichen Erreger feststellen konnte. Warum wir gegen diese Befunde Zweifel erheben müssen, soll später ausgeführt werden. Im übrigen stimmen die Beobachtungen von Schmitz und mir im wesentlichen überein und soll auf sie gelegentlich eingegangen werden, besonders, wo sie differieren.

Die von Schmitz 1917 als Ruhrerreger beschriebenen Bakterien sind in unserem Laboratorium schon 1916 gefunden und erwähnt worden. (vergl. l. c. 5 Gruppe III u. 11.) Auch 1917 haben wir sie wieder in verschiedenen Feldlaboratorien des Osten züchten können. Unabhängig von Schmitz und Kruse, und in Unkenntnis ihrer Arbeiten auf diesem Gebiet, habe ich diese Stämme eingehend bearbeitet.

So ist es wohl nicht ganz unwichtig, daß unsere Angaben annähernd parallel gehen und die ihrigen durch meine Untersuchungen ergänzt werden, daß ferner der Bazillus eine allgemeine Verbreitung auch an der Front gefunden hat.

Daher muß zur weiteren Klärung der Frage auf ihn in der kommenden Ruhrperiode besonders geachtet werden.

Vorgeschichte.

Schon im Jahre 1916 (vgl. 5 Gruppe III) war es uns aufgefallen, daß zuweilen in den Darmentleerungen Ruhrkranker keine der bisher bekannten Ruhrerreger trotz günstigster

Untersuchungsbedingungen (Lage des Laboratoriums im Seuchenlazarett, Entnahme und Verarbeitung des Materials am Krankenbett) nachgewiesen werden konnten, dagegen fanden sich öfters ruhrähnliche Keime, die aber wegen ihres abweichenden serologischen Verhaltens als Ruhrerreger nicht angesprochen werden konnten. Doch wurden wir immer wieder beim Auffinden dieser schönen zarten, klaren Kolonien stutzig, besonders, wenn sie aus blutig-schleimigen Stühlen in Reinkultur hervorgingen. Der negative Ausfall der Gruber-Widal'schen-Reaktion bei Ansetzen mit diesen Patientenstämmen, andererseits gelegentliche positive Ausfall mit Shiga-Kruse-Bazillen bestärkte uns in der Annahme, daß wir es nicht mit dem die Krankheit erzeugenden Keime zu tun hätten, daß vielmehr der Shiga-Kruse-Bazillus dafür verantwortlich zu machen sei, der durch irgend welche Umstände begünstigt, sich dem bakteriologischen Nachweis entzog. Für Shiga-Kruse-Ruhr sprach auch das klinische Bild und der zuweilen nicht leichte Verlauf der Krankheit.

Im Jahre 1917 nun konnten wir dieselben Beobachtungen machen, und es wurden während der Hauptruhrperiode einige Stämme gesammelt, um sie in ruhigerer Zeit einer eingehenden Prüfung zu unterziehen.

Mir standen 15 Stämme zur Verfügung. Leider konnten, als die systematische Bearbeitung einsetzte, einige Angaben über die Patienten und den Krankheitsverlauf nicht mehr ergänzt werden.

Diese Stämme — wir nannten sie Salasiew-Gruppe, nach einem russischen Gefangenen Salasiew, bei dem zuerst Bauch sie immer wieder während der Krankheit züchten konnte — stammen von akut kranken Leuten, und wir konnten sie meist in der ersten Krankheitswoche züchten.

Der Widal fiel meist negativ aus, und zwar stets mit dem isolierten fraglichen Keim. In einigen Fällen trat Ausflockung mit Shiga-Kruse-Bazillen auf, zweimal gleichzeitig mit Pseudodysenteriebazillen, einmal aber auch mit dem Pseudodysenteriestamm allein, wie das am besten die große Ueber-

sichtstabelle am Schluß zeigt. Dort ist auch das biologische Verhalten der einzelnen Stämme zu ersehen, die hier in ihrer Gesamtheit behandelt werden sollen. Nur auf die Keime, mit denen ein Immunserum hergestellt wurde, soll näher eingegangen werden.

Biologie.

Als verdächtig wurden die zarten, klaren, in der Größe dem Shiga-Kruse-Wachstum entsprechenden Kolonien auf der Endoplatte gefunden und das Verhältnis zu den Coli-Kolonien derselben Platte festgestellt (Tabelle 1 Spalte 9). Nach 48 Stunden zeigten die Kolonien einen leicht rosa Ton, waren am Rande leicht gezackt und von der Mitte aus leicht gestrahlt. Auf dem Drigalski-Nährboden wächst der Bazillus zu größeren, klarblauen Kolonien aus. Gelatine wird durch ihn nicht verflüssigt; Gelatine-Hochröhrchen, durch Stich beimpft, zeigen einen glatten Stichkanal, andere aber wurzelhaarförmige Verzweigungen. Auf Gelatineplatten erscheint die Kolonie weinblattartig, wie das vom Typhus-Wachstum bekannt ist.

Verdächtige Keime wurden in der sogenannten „bunten Reihe“ auf ihr biologisches Verhalten gegen die verschiedenen Nährböden geprüft. Trauben- und Milchzucker wird nicht vergoren, Lackmusmolke leicht gerötet, deren Farbe am zweiten Tage meist zu rötlich violettem Ton umschlägt und nur selten leicht getrübt wird; sie bleibt meist rot klar. Nach Gram ist der Bazillus nicht färbbar. Es sind plumpe Kurzstäbchen, unbeweglich, bleiben es auch bei mehrmaliger Bouillonpassage und durch die Geisselfärbung wurde nachgewiesen, daß Geisseln auch nicht in Rudimenten vorhanden sind.

Anmerkung: Zur Geisselfärbung wurde das von Casares-Gil beschriebene Verfahren angewandt. Die Deckgläschen werden in Kaliumbichromatschwefelsäure gereinigt, Bakterien einer 18 - 24 stündigen Kultur in mehreren Tropfen verdünnt und mit zweiprozentiger Osmiumsäure abgetötet. Dünne Ausstriche in Flamme fixieren.

Stammlösung: 30 ccm 70 prozentiger Alkohol, 10 gr. Tannin, 18 gr. Aluminiumchlorhydrat sorgfältig nacheinander lösen und tropfenweise unter Schütteln die zweite Lösung zusetzen bestehend aus: 10 ccm aqua dest., 10 gr. Zinkchlorid, 1,5 gr. Rosanilinchlorhydrat. Zum Gebrauch 1 Teil Stammlösung und 4 aqua dest. schnell mischen, umschütteln, absetzen lassen und auf Präparat filtrieren. Präparat eine Minute färben lassen. Wasserspülung. Nachfärben mit Methylenblau oder Carbolfuchsin. (Central-Blatt f. Bakt. Orig. Bd. 76 p. 233). Benutzt wurde eine Abänderung nach Bauch. Statt des Nachfärbens mit Methylenblau, das keine guten Resultate ergab, wurden die Präparate mit Zettnows-Geisselbeize (Aethylaminsilberlösung) unter Erwärmen bis zum Schwarzwerden der Ausstrichränder behandelt.

Von den Zuckernährböden zersetzt der Bazillus weder Lackmusmannit (im Gegensatz zu Kruse's Angaben) noch Maltose und Saccharose, verhält sich also auch hier wie ein echter Shiga-Kruse-Bazillus, erzeugt auch den für Ruhr so charakteristischen spermaähnlichen Geruch. Doch unterscheidet er sich von ihm durch die Fähigkeit, schnell und stark Indol zu bilden.

Anmerkung: Indol-Nachweis nach Ehrlich: Paradimethylamidobenzaldehyd 4 und 96 prozentigem Alkohol 380 und konz. HCl 80. Lösung b: Gesättigte wässrige Lösung von Kaliumpersulfat. Die Bouillonkultur wird mit der Hälfte ihres Volumens mit der Lösung b vermischt, mit Lösung a überschichtet und leicht erwärmt. Rotfärbung!

Nur ein Stamm zeigte erst nach 26 Tagen schwache Indolbildung. Milch wurde in 3—4 Wochen nicht zur Gerinnung gebracht oder sonst verändert. Nur der Stamm 318 coagulierte die Milch.

Diese Keime verhalten sich also auf allen Nährböden wie echte Shiga Kruse-Bazillen, schlagen aber durch die Indolbildung und durch ihr evtl. Milchgerinnungsvermögen in die Pseudodysenteriegruppe. Stamm 615 scheint wegen seiner schwachen Indolbildung zur echten Dysenterie überzuleiten.

Serologie.

Es mußte nun versucht werden, durch die serologische Prüfung gegen die bekannten agglutinierenden Sera nähere Verwandtschaftsbeziehungen zu ergründen.

Daher wurden agglutinierendes Kruse-Flexner- und Y-Serum in den Verdünnungen 1 : 100 und 1 : 500 und ebenso die Kruse'schen Pseudodysenteriesera der Gruppen A., D. und H., die mir zur Verfügung standen, mit den fraglichen Stämmen angesetzt. Gleichzeitig wurde das von Porges angegebene nnd durch die Arbeit von Hamburger und Bauch als zuverlässig anerkannte Verfahren, mittels Kochen schwer oder inagglutinable Krusestämme agglutinabler zu machen, angewandt und erweitert. Dieses Verfahren erwies sich als ganz besonders wichtig bei Bewertung dieser Bazillengruppe, wie das später durch die erzielten Resultate treffend beleuchtet wird. Es wurden die Stämme mit 2 ccm physiologischer Kochsalzlösung abgeschwemmt und eine Stunde im Dampftopf erhitzt und nach Erkalten in derselben Weise mit den gleichen Seris versetzt. Eine Ausflockung trat nicht ein bis auf 3 Stämme, die in gekochtem Zustande durch Kruse-Serum in der Verdünnung 1 : 100 gefällt wurden. Daraus kann natürlich keine verwandtschaftliche Beziehung zum Shiga-Kruse-Bazillus konstruiert werden.

Auch ergab der Castellani'sche-Absättigungsversuch, daß Kruse-Flexner-Y, Pseudo A., D. und H.-Agglutinine durch meine Stämme nicht gebunden wurden, wie auch Schmitz nachgewiesen hat.

Mir stand nun ein Kaninchen-Immunserum zur Verfügung, das in unserem Laboratorium bei den früheren diesbezüglichen Versuchen des Jahres 1916 mit dem Salasiew-Stamm 550 hergestellt war. Dieses bereits 1 Jahr alte Serum hatte nach seiner Gewinnung einen Titer von 1 : 400 gehabt, zeigte jetzt aber keinerlei Ausflockungsvermögen gegenüber den nativen Salasiew-Stämmen mehr, agglutinierte sie dagegen in gekochtem Zustande bis zu einer Höhe von 1 : 3200.

Der daraufhin angestellte Castellani'sche Versuch ergab, daß die Agglutinine sowohl durch den nativen, wie auch gekochten Stamm, völlig gebunden wurden (Tab. 2).

Tabelle 2.

Sal. Ser. 550.

abges. c.	nachtitriert c.	100	200	400	800	1600	3200	6400
St. 622	St. 622 gek.	—	—	—	—	—	—	—
„	St. 626 gek.	—	—	—	—	—	—	—
St. 622 gek.	St. 622 gek.	—	—	—	—	—	—	—
„	St. 626 gek.	—	—	—	—	—	—	—
Contr.								
Sal. Ser. 550	St. 622 gek.	+	+	+	+	(+)	—	—
„	St. 626 gek.	+	+	+	+	(+)	(+)	—

Daraus wurde der Schluß gezogen, daß es sich hier um schwer ausflockbare Stämme handele.

Dieser schweren Ausflockbarkeit muß in der kommenden Ruhrperiode besonders Rechnung getragen und der Widal auch stets mit den gekochten Stämmen der Salasiew-Gruppe angesetzt werden. Das wird uns vielleicht Aufschluß über manchen fraglichen Fall geben!

Die Ausflockung der gekochten Bakterien ist als streng spezifisch anzusehen. Kontrollen wurden mit allen gekochten Stämmen in den verschiedensten Immun- und Normalseris angesetzt, aber nie eine abweichende Erscheinung wahrgenommen.

Anmerkung: Eine Ausflockung der Stämme in den Kontrollen trat bei Beginn der Untersuchungen nur bei Verwendung von alten Pferd- und Esel-Normalseren auf. Sie erwies sich aber als völlig unspezifisch, da jeder andere Bazillus ebenfalls agglutiniert wurde. Bei frischen Seren trat diese Erscheinung nicht ein. Als agglutinierende Sera wurden für die Versuche stets nur solche von Kaninchen benutzt, da bei Verwendung von Pferd- oder Eselserum leicht unspezifische Ausflockungen auftreten, man auch mit

einer Paragglutination rechnen muß, wie Kuhn[7]) nachgewiesen hat.

Hierauf sind vielleicht auch die Unterschiede in den Ergebnissen zurückzuführen, die Schmitz beim Prüfen seiner Stämme mit agglutinierenden Seren verschiedener Herkunft erzielte, andererseits seine abweichenden Resultate gegenüber meinen Ergebnissen, da einige seiner Stämme in Kruse-Flexner- und Y-Serum gleichzeitig bis zur Titerhöhe ausgeflockt wurden. Kontrollen mit Normalseris sind nicht angeführt.

Antigenes Verhalten.

Es wurde sodann das antigene Verhalten dieser Bakterien festgestellt.

Ein Kaninchen von 1620 gr. erhielt $^1/_2$ N. Oese bei 56° abgetöteter Kultur des Stammes 1144 intravenös, nach 4 Tagen $^1/_{10}$ Oese lebende Aufschwemmung i. v., nach 3 Tagen $^1/_2$ Oese und nach weiteren 3 Tagen $^1/_2$ Schrägagarkultur in gleicher Weise. Blutentnahme nach 2 Wochen. Der Titer des Serums betrug für den nativen Stamm 1 : 400 für den gekochten dagegen 1 : 3200. Ebenso verhielten sich mit kleinen Abweichungen andere Salasiew-Stämme, die zur Kontrolle angesetzt wurden. Je 15 bekannte Dysenterie- und Pseudodysenterie-Stämme zeigten keine Ausflockung, auch nicht in gekochtem Zustand. Nach einem 14tägigem Zwischenraum, während dessen noch eine einmalige Injektion mit lebender Kultur erfolgt war, wurde dem Tier eine größere Menge Blut zur Serumgewinnung entnommen. Da zeigte es sich nun, daß der Titer für die nativen Bakterien nur 1 : 200 mehr betrug, für die gekochten dagegen weiterhin 1 : 3200.

Als auffällig erwies sich die äußerst starke, grobklumpige Fällung der nativen Bakterien in der Verdünnung 1 : 200, die dann bei 1 : 400 wie abgeschnitten war.

Dieses ist mit ein Charakteristikum der Stämme (Tab. 3).

Tabelle 3.

Ser. 1144.

		100	200	400	800	1600	3200	6400	Pferd	Esel	Kan.	NaCl
14. Tag	St. 1144	++	++	+	—	—	—	—	—	—	—	—
„	„ gek.	++	++	++	++	++	+	—	—	—	—	—
28. Tag	St. 1144	+++	++	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„	„ gek.	+++	+++	+++	++	+	+	—	—	—	—	—
„	St. 623	++	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„	„ gek.	++	++	++	+	+	—	—	—	—	—	—
„	St. 1132	+++	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„	„ gek.	+++	++	++	+	—	—	—	—	—	—	—
„	Sal. 550	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„	„ gek.	++	++	++	+	—	—	—	—	—	—	—
„	St. 318	++	++	+	—	—	—	—	—	—	—	—
„	„ gek.	++	++	++	+	+	—	—	—	—	—	—
„	St. 615.	+++	+++	++	—	—	—	—	—	—	—	—
„	„ gek.	++	++	++	++	+	+	—	—	—	—	—
„	Psdo. I	+++	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„	„ gek.	+++	+++	+++	+++	++	(+)	—	—	—	—	—
„	Baz. Schmitz	+++	++	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„	„ gek.	+++	++	++	++	+	—	—	—	—	—	—

Anmerkung: Mit +++ wird in den Tabellen eine völlige Sedimentierung der Bakterien bezeichnet, die sich beim Schütteln in große Brocken auflöst. Mit ++ eine grobflockige Agglutination, mit + eine deutlich sichtbare, mit (+) eine feinflockige, mit bloßem Auge noch zu erkennende. Bemerkt sei, daß nie eine Betrachtung mit optischen Instrumenten, sondern nur stets eine solche mit blossem Auge erfolgte. Darauf lassen sich wohl auch gewisse Unterschiede in den Werten gegenüber den Angaben von Schmitz erklären.

Die Serumverdünnungen wurden mit Carbolkochsalz hergestellt, um Auswachsen der Bakterien und eine etwa dadurch vorgetäuschte Agglutination zu vermeiden.

In gleicher Weise wurde ein Kaninchen von 1430 gr. mit dem Stamm 623 vorbehandelt. Das Serum hatte nach 14 Tagen

einen Titer von 1 : 400, doch war eine Ausflockung auch bei 1 : 800 mit bloßem Auge noch sichtbar, mit gekochten Bakterien 1 : 6400. Nach weiteren 2 Wochen war aber auch hier bei gleicher Behandlungsweise ein Sinken des Titers für die nativen Bakterien auf 1 : 200 bei grob-klumpiger Fällung festzusellen; für den gekochten Stamm blieb der Titer derselbe.

Tabelle 4.

Ser. 623.

		100	200	400	800	1600	3200	6400	12800	Pferd	Esel	Kanin	NaCl
14. Tag	St. 623	++	++	++	+	(+)	—	—	—	—	—	—	—
„	„ gek.	++	++	++	++	++	+	+	(+)	—	—	—	—
28. Tag	St. 623	++	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„	„ gek.	++	++	++	+	+	+	+	(+)	—	—	—	—
„	St. 1144	+++	+++	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„	„ gek.	++	++	++	++	+	+	(+)	—	—	—	—	—
„	St. 1132	+++	+++	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„	„ gek.	++	++	++	++	+	+	—	—	—	—	—	—
„	Sal. 550	++	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„	„ gek.	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	—	—	—	—	—
„	St. 318	++	++	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„	„ gek.	++	++	++	++	+	+	+	(+)	—	—	—	—
„	St. 615	+++	++	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„	„ gek.	+	++	++	++	+	+	+	(+)	—	—	—	—
„	Psdo. I	+++	+++	++	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„	„ gek	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	(+)	—	—	—	—
„	Baz. Schmitz	+++	+++	++	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„	„ gek.	++	++	++	++	++	++	+	(+)	—	—	—	—
Kruse-Flexner u. Y-Teststamm		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
15 Kruse-stämme		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
15 Y-Stämme		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Pseudo A., . D., H.		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Atyp. Pseudo-stamm 515		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Mit diesem Serum wurden ebenfalls je 15 Shiga-Kruse und Pseudodysenterie-Stämme angesetzt, die in keinem Falle ausgeflockt wurden. Dagegen zeigten alle Stämme der Salasiew-Gruppe dieselbe Erscheinung: starke, grob-klumpige Ausflockung mit den nativen Stämmen in niederer Verdünnung, die ohne Uebergang aufhört, mit den gekochten dagegen hinaufgehend bis zu Verdünnungen von 1 : 6400, ja 1 : 12800.

Auch der Stamm 318, der wegen seines Milchgerinnungsvermögens aus der Gruppe hervorgehoben werden muß, zeigte kein abweichendes Verhalten, sodaß bewiesen werden konnte, daß in die Salasiew-Gruppe auch milchgerinnende Stämme einzuschließen sind. (Tab. 4 s. nebenstehend).

Fällungs-Optimum.

Die auffallende Erscheinung der Ausflockung von gekochter und ungekochter Bakterienaufschwemmung gab nun Veranlassung, das Verhalten der Bakterien bei verschiedenen Wärmegraden zu prüfen und ein „Fällungs-Optimum“ festzustellen.

Zu diesem Zwecke wurden Agarkultur-Abschwemmungen je eine Stunde bei 55°, 65°, 75°, 85° und 95° erhitzt und dem nativen und gekochten Stamm gegenübergestellt. Dabei zeigte sich nun, daß die Agglutinabilität durch stärkeres Erhitzen zunimmt, wie am besten aus der Tabelle 5 ersichtlich ist.

Tabelle 5.

Ser. 623.

St. 623	100	200	400	800	1600	3200	6400	12800	Pferd	Esel	Kanin	Na Cl
nativ	++	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
bei 55°	++	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 65°	+	+	(+)	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 75°	+	+	+	+	+	(+)	—	—	—	—	—	—
„ 85°	++	++	++	+	+	(+)	—	—	—	—	—	—
„ 95°	++	++	++	++	+	+	—	—	—	—	—	—
gekocht	+	+	++	+	+	+	(+)		—		—	—

Ser. 623.

St. 1144	100	200	400	800	160	3200	6400	12800	Pferd	Esel	Kanin	Na Cl
nativ	++	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
bei 55°	+++	+++	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 65°	+++	++	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 75°	++	++	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
„ 85°	++	++	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
„ 95°	++	++	++	++	++	+	+	—	—	—	—	—
gekocht	++	++	++	++	++	+	+	(+)	—	—	—	—

Ser. 1144.

St. 1144	100	200	400	800	1600	3200	6400	12800	Pferd	Esel	Kanin	Na Cl
nativ	+++	++	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
bei 55°	+++	++	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 65°	+++	++	(+)	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 75°	+++	+++	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 85°	++	++	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 95°	+++	+++	++	++	++	+	—	—	—	—	—	—
gekocht	+++	+++	+++	++	+	+	—	—	—	—	—	—

Theorie des Fällungs-Optimums.

Es galt nun, für dieses sonderbare Verhalten dieser Keime eine Erklärung zu finden.

Im Anschluß an die Ehrlich'sche Seitenketten-Theorie könnte man annehmen, daß es sich hier um Keime handele, die stark Rezeptoren absondern. In der nativen Aufschwemmung wären daher nach dieser Auffassung neben den Bakterien eine große Menge „freier" Rezeptoren vorhanden, die mit in erster Linie die Agglutinine des Immunserums besetzen. In den niederen Verdünnungen des Immunserums nun wären so reichlich Agglutinine enthalten, daß neben der Absättigung der freien Rezeptoren noch genügend für die Ausflockung der Bakterien übrig bleiben. Dann aber muß die sichtbare Fällung aufhören, sobald die Agglutinine nur noch zur Besetzung durch

die freien Rezeptoren, die eine größere Affinität für deren haptophore Gruppen besitzen, ausreichen.

Durch das Erhitzen resp. Kochen aber würden die freien Rezeptoren in steigendem Maße zerstört, jedoch nur diese, da die Rezeptoren der Bakterienleiber als deren fester Bestandteil widerstandsfähiger gedacht werden könnten.

Gestützt sollte diese Theorie durch verschiedene Versuche werden.

1. muß die längere Einwirkungsdauer einer Temperatur, die eine merkliche Erhöhung der Agglutination bedingt, also etwa 65°, den Endtiter erreichen lassen, der durch das Kochen gefunden wurde. Dieses konnte nachgewiesen werden (Tabelle 6).

Tabelle 6.

Ser. 623.

	100	200	400	800	1600	3200	6400	12800	25600	Pferd	Esel	Kanin	Na Cl
St. 623 nativ	++	+	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
„ 1 Std. 65°	+	+	(+)	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
„ 2 „ „	+	+	+	+	+	+	+	−	−	−	−	−	−
„ 3 „ „	++	++	+	+	+	+	+	(+)	−	−	−	−	−
„ gekocht	++	++	++	++	++	+	+	(+)	−	−	−	−	−

Ser. 1144.

St. 1144 nativ	+++	++	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
„ 1 Std. 65°	+++	++	(+)	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−
„ 2 „ „	++	++	++	+	+	−	−	−	−	−	−	−	−
„ 3 „ „	++	++	++	+	+	−	−	−	−	−	−	−	−
„ gekocht	++	++	++	++	+	+	−	−	−	−	−	−	−

2. muß durch den Castellani'schen Versuch quantitativ ein deutlicher Unterschied in den Mengen festgestellt werden, die dazu gehören, um eine gewisse Zahl der Agglutinine des Immunserums mit gekochter und ungekochter Aufschwemmung abzusättigen. Denn wenn 1 ccm Immunserum durch 1 ccm nativer Aufschwemmung, die x Bakterien + y freie Rezeptoren enthält, gerade abgesättigt wird, so muß

natürlich die gekochte Aufschwemmung dichter sein, um die Absättigung zu erzielen, da ja die y freien Rezeptoren durch das Kochen zerstört werden sollten.

Dem war jedoch nicht so. In beiden Fällen, in gekochtem und ungekochtem Zustand reichte die Bakterienmenge eines kleinen Schrägagarröhrchens nicht aus, um alle Agglutinine einer Verdünnung 1 : 50 abzusättigen. Die völlige Bindung trat erst ein, wenn der Bakterienrasen von 2 Röhrchen mit 1 ccm NaCl abgeschwemmt und zum Versuch benutzt wurde.

Der Ausfall dieses Versuchs sprach also gegen das Vorhandensein freier Rezeptoren.

3. eine 24stündige Schrägagarkultur wurde mit 2 ccm NaCl abgeschwemmt und 24 Stunden in den Brutschrank gestellt, damit genügend freie Rezeptoren in die Flüssigkeit übergehen könnten. Danach wurde zentrifugiert und die klare Flüssigkeit, in der jetzt eine Menge freier Rezeptoren enthalten sein müßten, mit dem Immunserum 24 Stunden im Brutschrank binden gelassen. Dadurch mußte bei Anwesenheit von freien Rezeptoren, die Bindung einer gewissen Zahl von Agglutininen erfolgen, was bei der Nachtitrierung am Sinken des Titers festzustellen gewesen wäre.

Aber der Endwert war derselbe wie bei der Kontrolle (Bindenlassen derselben Serumverdünnung mit physiologischer Kochsalzlösung Tabelle 7 s. nebenstehend).

Die Versuche beweisen also, daß für die schwere Ausflockbarkeit der Stämme nicht das Vorhandensein von freien Rezeptoren verantwortlich zu machen ist, sondern daß durch Erhitzen die Stämme agglutinabler werden. Diese Erhöhung der Agglutinabilität muß mit Porges in einer Veränderung des Bakterienproteins gesucht werden.

Immunisierung mit Stamm 318.

Auch der Stamm 318, der durch sein Milchgerinnungsvermögen eine besondere Stelle einnimmt, sollte auf sein antigenes Verhalten geprüft werden.

Tabelle 7.

Ser. 623.

abges. c.	nach-titriert c.	200	400	800	1600	3200	6400	12800	25600	Pferd	Esel	Kanin	Na Cl
Na Cl	St. 1132 gek.	++	++	++	++	+	+	+	−	−	−	−	−
Na Cl + fr. Rez. des St. 1132	St. 1132 gek.	++	++	++	++	+	+	+	−	−	−	−	−
Na Cl	St. 1144 gek.	++	++	++	++	+	+	(+)	−	−	−	−	−
Na Cl + fr. Rez. des St. 623	St. 1144 gek.	++	++	++	++	+	+	+	−	−	−	−	−

Ser. 1144.

Na Cl	St. 318 gek.	++	++	++	+	+	(+)	−	−	−	−	−	−
Na Cl + fr. Rez. 1144	St. 318 gek.	++	++	+	+	(+)	−	−	−	−	−	−	−

Zu diesem Zwecke wurde ein Kaninchen von 1250 gr mit $^1/_2$ Oese Kultur, die durch einstündiges Erhitzen auf 56° abgetötet war, i. v. vorbehandelt. Das Tier wurde im Laufe von 2 Stunden schwer krank und blieb es unter starker Abmagerung 8 Tage lang. Auffällig ist die Aufnahme von großen Mengen Wasser durch das Tier. Es erholte sich sehr schwer, sodaß erst 14 Tage nach der ersten Injektion die zweite mit $^1/_{10}$ Oese lebender Kultur erfolgen konnte. 5 Tage später $^1/_2$ Oese lebender Kultur i. v. Leider war das Tier nach weiteren 6 Tagen eingegangen, als ich gerade abwesend war, sodaß ein Sektionsprotokoll nicht erhoben werden konnte.

Immunisierung mit gekochten Bakterien.

Es mußte daher der Versuch wiederholt werden, und es wurde ein alter schwerer Kaninchenbock von 3120 gr Gewicht mit $^1/_2$ Oese gekochter Kultur i. v. gespritzt.

Zugleich sollte dadurch geprüft werden, ob die Bakterien durch Kochen in ihrer Funktion als Antigen geschädigt würden.

Das Tier, das vorher äußerst lebhaft gewesen war, wird sehr bald ruhig und ist nach 3 Stunden so schwer krank, daß mit seinem Eingehen gerechnet werden mußte. Es liegt lang ausgestreckt auf der Seite; schweres, schnelles, stoßweises Atmen und Schlagen der Flanken. Aus der Kiste genommen, verkriecht es sich sofort in der nächsten Ecke und wirft sich wieder auf die Seite. Am nächsten Tage ist leichte Besserung eingetreten, doch ist das Tier weiter apathisch und verweigert jede Nahrungsaufnahme. Es stellt sich leichter Durchfall ein. Auch dieses Tier nimmt viel Wasser auf. Erst am 5. Tage ist es wieder ganz hergestellt und erhält am Tage darauf die gekochte Abschwemmung einer Viertel Agarkultur i. v., die gut vertragen wird. Eine Blutentnahme zeigt, daß das Serum schon am 6. Tage den nativen Stamm 1 : 800, den gekochten 1 : 3200 ausflockt. Das Verhalten des Serums 14 Tage nach der ersten Injektion zeigt Tabelle 8.

Tabelle 8.

Ser. 318.

		100	200	400	800	1600	3200	6400	12800	Pferd	Esel	Kanin	Na Cl
6. Tag	St. 318	+++	++	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
„	„ gek.	+++	+++	++	++	+	+	—	—	—	—	—	—
14. Tag	St. 318	++	(+)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„	„ gek.	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	(+)	—	—	—	—
„	Psdo. I.	++	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„	„ gek.	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	(+)	—	—	—	—
„	St. 623	++	++	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„	„ gek.	+++	+++	+++	++	++	+	+	—	—	—	—	—
„	St. 1144	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„	„ gek.	+++	+++	+++	++	+	+	+	—	—	—	—	—

Hieraus ist ersichtlich, daß das Immunserum dieses Milchgerinners 318 die typischen Stämme der Salasiew-Gruppe ebenso beeinflußt, wie er selbst durch das Serum der typischen Vertreter ausgeflockt wird.

Dadurch ist bewiesen, daß beide Typen, die Milchgerinner und die Stämme, die nicht Milch coagulieren, in derselben Gruppe zu vereinigen sind und andererseits, daß durch das Kochen das antigene Verhalten nicht beeinflußt wird.

Immunisierung mit Kruse'schem Pseudo-I-Stamm.

Da mir durch das hygienische Institut Leipzig liebenswürdigerweise ein Stamm der Kruse'schen Pseudodysenterierasse I nebst Bazillus Schmitz (Pseudo J) zugesandt waren, konnte ich kurz vor Abschluß meiner Arbeit auch noch diese Stämme prüfen.

Biologisch und serologisch zeigte sich kein Unterschied gegenüber meinen Salasiew-Stämmen; sie agglutinierten auch in gleicher Weise mit meinen Salasiew-Immunseris, wurden nach Kochen ebenfalls typisch und grobklumpig ausgeflockt.

Auffallend war daher die Behauptung Kruse's, daß Agglutinine im Tier- und Menschenkörper nicht gebildet würden.

Um dieses nachzuprüfen, wurde ein Kaninchen mit dem mir zugesandten Pseudo-I-Stamm immunisiert. Obwohl dieses ein schweres Tier von 3550 gr. war, erkrankte es doch recht bald nach Injektion von 1 Oese gekochter Kultur sehr schwer. Die gleichen Krankheitserscheinungen wie bei Kaninchen 318. Eine Besserung tritt erst nach 5 Tagen ein. Das Ergebnis der Blutuntersuchung am 8. und 14. Tage — es war noch eine Injektion von $^1/_3$ Oese lebender Kultur erfolgt — zeigt Tabelle 9. (S. umstehend.)

Es konnte also durchaus kein abweichendes Verhalten festgestellt werden.

> Anmerkung: Bei dieser Gelegenheit möchte ich darauf hinweisen, daß ich, im Gegensatz zu Schmitz, nie einen positiven Widal mit den ungekochten Patientenstämmen feststellen konnte. Wie die Tabellen des Serums 318 und Pseudo-I ergeben, ist der Titer für den nativen Stamm an frühen Krankheitstagen ein hoher, geht jedoch bald herunter und bleibt nur für den gekochten Stamm bestehen. Es liegt nahe, eine

Parallele zwischen Tier und Mensch zu vermuten; es müßte daher in der kommenden Ruhrperiode diesem Umstand besonders Rechnung getragen (Blutuntersuchung bei Beginn der Krankheit!), außerdem der Widal auch stets mit dem gekochten Stamm angesetzt werden.

Tabelle 9.

Ser. Psdo. I.

		100	200	400	800	1600	3200	6400	12800	Pferd	Esel	Kanin	Na Cl
8. Tag	Psdo. I	+++	+	(+)	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„	„ gek.	+++	++	+++	+++	+++	++	+	—	—	—	—	—
„	St. 1132	++	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„	„ gek.	+++	++	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
14. Tag	Psdo. I	+++	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„	„ gek.	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	(+)	—	—	—	—
„	St. 318	+++	(+)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„	„ gek.	+++	+++	+++	++	++	+	+	—	—	—	—	—
„	St. 623	++	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„	„ gek.	++	++	++	++	+	+	(+)	—	—	—	—	—
„	St. 1144	+++	(+)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„	„ gek.	+++	+++	+++	++	+	(+)	—	—	—	—	—	—

Giftwirkung und Gifte.

Auffallend war nun die starke und schnelle Reaktion des Tierkörpers bei Injektion mit dem gekochten Stamm.

Das konnte nur als Giftwirkung angesehen werden.

Es wurden daher weitere Tierversuche unternommen, die aber leider aus Tiermangel nicht den gewünschten Umfang annehmen konnten.

1. Ein Kaninchen von 1940 gr. erhält 1 ccm gekochte Kultur des Stammes 318 intravenös. Es wird sehr bald ruhig, legt sich, Temperatur steigt auf 39,5° und hält sich 24 Stunden auf derselben Höhe. Es tritt nach 48 Stunden deutliche Besserung ein. Das Tier ist nach 3 Tagen leidlich wieder hergestellt, wenn auch noch matt und trübe blickend.

2. Dem Kaninchen, das zur Immunisierung mit Stamm 318 benutzt war und die schwere Erkrankung überstanden hatte, wurde Blut entnommen. 1 ccm des so gewonnenen Serums, das Antikörper enthalten könnte, ließ ich eine halbe Stunde im Brutschrank mit 1 ccm gekochter Aufschwemmung 318 binden — zur größeren Gleichmäßigkeit der Versuche wurden 10 Agarröhrchen mit je 2 ccm NaCl abgeschwemmt und 1 Stunde im Dampftopf erhitzt (1 ccm enthält also $^1/_2$ Agarkultur) — und injizierte sie einem Kaninchen von 2700 gr i. v. (3^{40} nachmittags). Das Tier erkrankt sehr rasch, liegt 6^{00} schwer atmend auf der Seite, ist völlig gelähmt, Gliedmaßen von sich gestreckt, läßt sich auf Seite und Rücken legen, ohne sich zu wehren, reagiert auch nicht auf Kneifen und Ziehen. Der Zustand hält an. Nach $^1/_2$ Stunde wird dem Tier 1,5 ccm des gleichen Serums i. v. injiziert. 7^{00} abends zeigt es leichten Widerstand, wenn man es auf den Rücken legen will. 7^{30} Lähmung der hinteren Extremitäten behoben, sträubt sich, liegt nicht mehr auf der Seite. 9^{30} sitzt aufrecht, säuft von selbst. Am nächsten Morgen liegt es jedoch wieder völlig matt und gelähmt auf der Seite, läßt sich widerstandslos auf den Rücken legen. 1 ccm Serum 318 ruft keinerlei Besserung hervor; auch nicht 2 ccm vermögen am nächsten Tage den Zustand zu bessern. Das Tier verendet nach 48 Stunden.

Die Sektion ergibt: stark gefüllte Blase (der Urin gibt eine positive Eiweißprobe). Es fällt die starke Infiltration der Blutgefäße des Netzes auf. Die Schleimhaut des Darms zeigt keinerlei pathologische Veränderung.

3. Zur Kontrolle erhält ein Kaninchen (2390 gr) 1 ccm lebende Kultur 318 intravenös. Es hüpft darnach noch eine Stunde herum, drückt sich dann 3 Stunden krank in sein Lager, erholt sich aber rasch und ist nach 8 Stunden wieder ganz mobil.

4. Als zweite Kontrolle wird einem Kaninchen 1 ccm eines gekochten Colistammes ($^1/_2$ Schrägagar) i. v. injiziert. Es wird erst nach 2 Stunden ruhig, macht einen trüben

Eindruck und ist 3 Stunden lang sichtbar krank. Temperatur 40,1°. Darnach sitzt es aber aufrecht, hüpft zum Wasser und frißt auch etwas. Keinerlei Lähmung. Ist nach 12 Stunden wieder hergestellt.

5. Ein Meerschweinchen (230 gr.) erhält 0,5 ccm gekochte Aufschwemmung 318 intraperitoneal. Das Tier sitzt tagsüber ruhig, frißt nicht. Ist am nächsten Tage völlig gesund, reagiert auch nicht auf nochmalige i. p. Einverleibung von 1 ccm gekochter Bakterien.

6. Eine Feldmaus erhält $^1/_2$ Oese lebender Kultur 318 subkutan. Sie bleibt gesund.

7. Eine große Feldmaus bekommt eine Oese gekochter Kultur 318 subkutan. Das Tier frißt tagsüber nicht, sitzt am nächsten Morgen mit verquollenen Augen still und krank da, fällt mittags öfter auf die Seite. Nachmittags Lähmungserscheinungen der Hinterhand, gegen Abend Krämpfe, schnelles stoßweises Atmen, bewegt sich nur torkelnd, die Hinterhand nachschleppend. Stirbt nach 36 Stunden. Sektionsergebnis: stark gefüllte Blase, Blasenwandung leicht blutig infiltriert, dickflüssiger Urin. Milz stark vergrößert (eine bakteriologische Kontrolluntersuchung fiel negativ aus), Netzwerk stark blutig durchtränkt. Darmschleimhaut ohne pathologische Veränderung.

Wenn man nun die Resultate betrachtet, so sieht man, daß die gekochten Bakterien eine starke Giftwirkung entfalten. Diese Gifte werden also im Experiment erst durch Kochen frei. Sie sind gleichzeitig hitzebeständig. Die lebenden Bakterien dagegen konnten keine starke Reaktion des Tierkörpers hervorrufen, obwohl auch hier ein Abbau und Zerfall der Bakteriensubstanz erfolgen muß.

Worin liegt denn nun das giftige Prinzip bei diesen Bakterien?

Echte Toxine.

Zunächst wurde auf echte Toxine gefahndet. Aber ich konnte keine Sekretionsgifte feststellen. Von den Stämmen 623 und 1144 wurden Bouillonkulturen (Kreidebouillon) her-

gestellt, und die Bakterien mit Toluol abgetötet. Je 1,5 ccm dieses dreiwöchigen Bouillongiftes vermochte nicht, das Befinden der Versuchstiere bei i. v. Injektion zu beeinflussen. Das deckt sich mit den Ergebnissen unseres Laboratoriums aus dem Jahre 1916, da wir damals schon 3 Toxinversuche am Kaninchen mit diesen Stämmen gemacht hatten (vgl. 5 und 11).

So konnte also an 5 Fällen bewiesen werden, daß die Stämme der Salasiew-Gruppe keine Sekretionsgifte bilden.

Endotoxine.

Nun hätte die Möglichkeit bestanden, daß das Gift in die Gruppe der Endotoxine zu rechnen sei.

Aber auch dieses konnte durch folgende Versuche ausgeschlossen werden:

2 ccm jener gekochten Bakterienaufschwemmung 318, die zu allen Versuchen benutzt war, wurde zentrifugiert und 1 ccm der völlig klaren überstehenden Flüssigkeit einem Kaninchen i. v. injiziert. Das Tier wird bald krank; es stellt sich leichter Durchfall ein, der 3 Tage anhält, doch hat es sich nach 24 Stunden soweit erholt, das keine Gefahr mehr besteht.

Die zentrifugierten Bakterien nun wurden einige Male mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen, und dann wurde die Hälfte mit 1 ccm NaCl (also 1 ccm gekochter Kultur entsprechend) einem anderen Kaninchen i. v. eingespritzt. Das Tier zeigt wohl leichte Mattigkeit, doch keinerlei Krankheitserscheinungen.

Der Versuch wurde an 2 weiteren Kaninchen wiederholt, mit dem gleichen Ergebnis: geringe Reaktion bei gekochten und gewaschenen Bakterien, Erkrankung bei Injektion mit der klaren Flüssigkeit, ja bei diesem Versuch ging das letztere Tier am 2. Tage ein.

Die Sektion ergab keinerlei pathologische Veränderungen. Nur fiel später, da dem Tier Blut post mortem entnommen war, eine gelatinöse Gerinnung des Blutserums auf.

Auch mit Hausmäusen wurden Versuche angestellt.

Ein Tier erhält 0,5 ccm der gekochten Kultur 318 subkutan, Es ist nach 8 Stunden unter Lähmungserscheinungen eingegangen,

Eine zweite Maus wird mit 0,5 ccm der klaren zentrifugierten Toxinflüssigkeit gespritzt. Schwere Erkrankung mit äußerst starkem Atmen und Schlagen der Flanken, Verquellen der Augen. Der Tod erfolgt nicht; wie ich glaube, da ein Teil der injizierten Flüssigkeit wieder ausgelaufen war.

Ein drittes Tier erhält 0,5 ccm der gekochten und gewaschenen Bakterien. Es sind keinerlei Krankheitserscheinungen festzustellen.

So muß man also annehmen, da sich weder Sekretionsgifte noch Endotoxine nachweisen ließen, daß das Gift in einem abgebauten Eiweißkörper (Nukleoproteid) zu suchen ist, bei dessen Entstehung die Erhitzung eine ähnliche abbauende Rolle spielt, wie etwa die Fäulnis bezw. Fäulnisbakterien bei Entstehung der stark toxischen Fäulnisgifte.

Eine andere Möglichkeit fällt in die Richtung jener Giftstoffe, die durch Auslaugen normaler Tierorgane gewonnen werden.

Erreger-Rolle.

Wenn wir nun der Frage näher treten, ob diese Salasiew-Stämme für Ruhrerkrankungen mitverantwortlich zu machen sind, so müssen wir zunächst feststellen, daß sowohl Kruse wie auch Schmitz ihnen eine Erregerrolle zusprechen.

Kruse begnügt sich dabei mit dem Befunde dieser Bazillen im Stuhl von Kranken, bei denen der Nachweis sonst bekannter Ruhrrassen nicht gelang. Gleichzeitig jedoch hebt er hervor, daß er keine Agglutinine im Patientenserum gegen den fraglichen Stamm feststellen konnte. Auch uns ist dieses in keinem Falle gelungen. Dagegen konnte ich, im Gegensatz zu Kruse, beweisen, daß im Tierkörper Agglutinine bei der Immunisierung entstehen, wenn auch nicht in solchem Umfange, wie es gewöhnlich bei Vertretern der Typhus-Coli-Gruppe gelingt. Erst mit Hilfe gekochter Bakterienaufschwemmung,

die, wie aus meinen Ausführungen deutlich hervorgeht, sich als ein sehr feiner Indikator erwiesen hat, kann man spezifische Agglutinine im Immunserum in größerem Umfange feststellen.

Schmitz stützt sich bei der Annahme, daß hier wahre Krankheitserreger vorliegen, hauptsächlich darauf, daß er nicht unerhebliche Agglutinine im Patientenserum feststellen konnte. Er befindet sich somit im Gegensatz zu Kruse's und meinen Erfahrungen. Gleichzeitig aber fand er hohe Werte für Shiga-Kruse-, wie auch gegen Flexner- und Y-Bazillen. Die Kontrollen mit dem Serum von gesunden Gefangenen ergaben in allen Fällen gleichzeitig einen Titer von 1 : 200 für Shiga-Kruse-, Flexner- und Y-Bazillen, sodaß der Schluß vielleicht nicht ganz unberechtigt ist, daß Schmitz sehr leicht agglutinable Stämme benutzt hat, die schon im Normalserum ausgeflockt werden. (Auch die Ergebnisse bei Auswertung der selbst erzeugten agglutinierenden Kaninchenseren sprechen dafür.) Die angestellten Castellani'schen Absättigungsversuche im Patientenserum ergaben keine eindeutigen Ergebnisse, wie Schmitz selbst zugibt. Daher mußten Kaninchen immunisiert werden, und hätten durch diesen Prozeß, der einer Infektion parallel geht, sowohl Agglutinine gegen den homologen Stamm, wie auch gegen Shiga-Kruse erzeugt werden müssen, wenn der positive Kruse-Widal im Patientenserum als Verwandtschaftsreaktion aufgefaßt werden soll. Aber die erzielten Werte betrugen nur 1 : 100, höchstens 1 : 500 mit Shiga-Kruse, und auch nur bei Betrachtung mit dem Agglutinoskop. Auch Schmitz erklärt, daß nach diesen Versuchen keine nähere Beziehung zur Gruppe der Shiga-Kruse-Bazillen besteht. Ebenso beweisen die Absättigungsversuche mit dem Epidemiestämmen einerseits und mit den Kruse-Flexner- und Y-Teststämmen andererseits im Kaninchen-Immunserum, „daß es sich hier um Stämme handelt, die serologisch keine Beziehungen zu den übrigen Ruhrtypen besitzen." (Literatur 10 p. 500).

Da diese Resultate völlig mit meinen Ergebnissen übereinstimmen, so muß man sich doch fragen: wo kommen die hohen Agglutinationswerte für Shiga-Kruse-Bazillen im Patienten-

serum her, da doch die Stämme keine oder nur äußerst geringe Agglutinine gegen Shiga-Kruse bei der Immunisierung erzeugen? Man wird wohl einstweilen daran festhalten müssen, daß bei allen Fällen mit hohem Kruse-Widal auch eine Infektion mit Shiga-Kruse-Bazillen vorliegt.

Auffällig ist doch auch die mangelnde Toxizität der Stämme sowohl was echte, wie Endotoxine betrifft. Das von mir beschriebene „Kochgift" kann wohl kaum als Ruhrgift angesprochen werden. Denn Ruhrgifte wirken streng spezifisch auf die Darmschleimhaut. In den Versuchen jedoch konnte eine Lokalisation dort nicht festgestellt werden. Nur Schmitz beschreibt einen Fall, daß er im Darm des einen von sechs eingegangenen Immuntieren zahlreiche Blutungen und Geschwüre beobachtete.

Da also ein ausgesprochenes Darmgift im Tierversuch nicht nachgewiesen werden konnte, die Erkrankten aber schwere Darmschädigungen zeigten, andererseits die fraglichen Keime im Tierkörper Agglutinine gegen Shiga-Kruse nicht erzeugten, im Patientenserum dagegen hohe Agglutinationswerte für Shiga-Kruse-Bazillen gefunden wurden, so ist die Rolle dieser Bazillen als Ruhrerreger wohl noch in Frage zu stellen.

Toxizität und Agglutinabilität erhält der Bazillus erst durch Erhitzen, ein Zustand, den wir kaum mit einer im lebenden Organismus entstehenden Abänderung vergleichen können.

Wir möchten uns daher über die ätiologische Bedeutung dieses Bazillus mit Sicherheit noch nicht aussprechen und glauben, daß für seine Erregerrolle doch noch eine Reihe von Beweisen zu erbringen sein wird. Als einer der wichtigsten wird der zweifellose Nachweis von spezifischen Agglutininen im Blute der Erkrankten zu führen sein und zwar mit Patientenstämmen im Zustand ihrer optimalen Ausflockbarkeit, d. h. in gekochtem Zustande.

Zusammenfassung.

Als Ergebnis meiner Untersuchungen, die unabhängig von Kruse und Schmitz erfolgten und in Unkenntnis ihrer Arbeiten vorgenommen wurden, wird festgestellt:

1. Die von Kruse und Schmitz als Erreger von Ruhrendemien in der Heimat beschriebenen Bazillen sind auch an verschiedenen Stellen der Front gefunden worden.

2. Kulturell entspricht der Keim dem Shiga-Kruse-Bazillus, weist aber durch Indolbildung und gelegentliches Milchgerinnungsvermögen zur Pseudodysenterie hin.

3. Serologisch zeigt er keinerlei Beziehungen zu den bekannten Ruhrtypen.

4. Agglutinine im Patientenserum konnten mit nativen Bakterien nicht nachgewiesen werden.

5. Es handelt sich um schwer ausflockbare Stämme, die in niederer Serumverdünnung stark und grobklumpig ausfallen, dann aber ohne Uebergang in der nächsten Verdünnung nicht mehr zusammengeballt werden.

6. Spezifisch gesteigert wird die Agglutinabilität durch einstündiges Erhitzen im Dampftopf.

7. Agglutinine werden im Tier besonders in den ersten Krankeitstagen gebildet. Der Titer für die nativen Bakterien bleibt ein geringer, geht schnell zurück und hört sehr bald ganz auf, während er für den gekochten Stamm ein viel höherer ist und auch bestehen bleibt. Daher ist der Widal mit den fraglichen Ruhrerregern möglichst früh und gleichzeitig auch mit dem gekochten Stamm anzusetzen.

8. Durch Immunisierung wird bewiesen, daß eine Verwandtschaft des homologen Stammes zu den bekannten Ruhrtypen, besonders zum Shiga-Kruse-Bazillus, nicht besteht.

9. Durch Kochen wird das antigene Verhalten der Bakterien nicht gestört.

10. Echte Toxine werden nicht gebildet.

11. Endotoxine sind nicht nachweisbar.

12. Durch einstündiges Erhitzen der Bakterien im Dampftopf erhält man ein hitzebeständiges „Kochgift," das wohl als Nukleoproteid zu deuten ist. Es ist nicht an die Bakteriensubstanz gebunden, sondern tritt in die umgebende Flüßigkeit aus, ist Kaninchen- und Mauspathogen, ruft bei diesen Tieren

Lähmungserscheinungen und Durchfall hervor, läßt aber Meerschweinchen unbeeinflußt.

13. Der von Kruse beschriebene Pseudodysenteriestamm I, der Bazillus Schmitz und die Salasiew-Stämme sind identisch.

14. Entgegen der von Kruse aufgestellten Behauptung, daß der Bazillus nicht imstande ist, Agglutinine im Tier- und Menschenkörper zu bilden, konnte gezeigt werden, daß solche doch bei Immunisierung im Tier entstehen, allerdings nur gering für den ungekochten, in höherem Grade aber für den gekochten Stamm.

15. Der Beweis dafür, daß diese Stämme als Ruhrerreger in Betracht kommen, ist noch nicht erbracht. Es sprechen dagegen: der hohe Kruse-Widal der Erkrankten, (während der Bazillus Agglutinine gegen Shiga-Kruse nicht zu erzeugen vermag) und die mangelnde Toxizität der Stämme.

16. Die Erregerrolle kann daher erst in der nächsten Ruhrperiode geklärt werden, wenn man, unter Verwertung der durch meine Untersuchungen erzielten Resultate, die Patientensera auch auf Agglutinine gegen die gekochten fraglichen Ruhrerreger prüft und solche einwandfrei bei Betrachtung mit bloßem Auge feststellen kann. Auch der Beweis für Vorhandensein spezifischer Darmgifte wäre noch zu erbringen, sodaß einstweilen die Rolle dieser Bakterien als Ruhrerreger noch in Frage gestellt werden muß.

Danken möchte ich noch zum Schluß auch an dieser Stelle besonders dem Leiter unseres Laboratoriums, Herrn Oberarzt d. R. Dr. Hamburger, bei dem ich einen großen Teil meiner bakteriologischen Ausbildung genossen habe, der mich zu dieser Arbeit anregte und mit seinem fachmännischen Rat stets unterstützt hat.

Tabelle 1 (Uebersichtstabelle).

Patient.								Kulturelle Stamm-Prüfung.												Serologische Prüfung.												
Lfd. Nr.	Nr. des Pat. St.	Krankh.-Tag bei Stuhluntersuch.	Aussehen des Stuhles	Krankh.-Tag bei Blutuntersuch.	Krankenser. c.			Verd. Kol. zu Coli	Gram	Traubenzucker	Milchzucker	Lackmusmolke	Bouillon	Mannit	Maltose	Saccharose	Indol	Milch	Gelatine	Geisseln	Agglutinierendes Serum						Normal			NaCl	altes Sal. Ser. 550	Ser. 623	Ser. 1144
					Kruse	Psdo.	Pat. St.														Kr.	Flex.	Y	Ps. A.	Ps. D.	Ps. H.	Pf.	E.	K.				
1	318	8	—	9.	100	100	—	$^{3}/_{300}$	—	—	—	rot. viol.	unbew.	—	—	—	+	+(14)	—24 glatter Kanal	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	$^{0}/_{400}$	$^{200}/_{12800}$	$^{400}/_{1600}$
2	323	4.	—	15.	—	400	—	$^{2}/_{300}$	—	—	—	„ l. „	„	—	—	—	+	—24	—24 wurzelföl.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	$^{0}/_{800}$	$^{200}/_{6400}$	$^{0}/_{3200}$
3	396	—	blutig-schleimig	5.	—	—	—	$^{10}/_{300}$	—	—	—	„ „ „	„	—	—	—	+	—24	—24 wurzelföl.	—	$^{0}/_{100}$	—	—	—	—	—	—	—	—	—	$^{0}/_{3200}$	$^{400}/_{3200}$	$^{400}/_{3200}$
				18.	200	—	—																									
4	615	5.	„	15	—	—	—	$^{20}/_{50}$	—	—	—	„ „ „	„	—	—	—	(+)(26)	—24	—24 wurzelföl.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	$^{0}/_{400}$	$^{200}/_{12800}$	$^{400}/_{3200}$
5	622	5.	„	15.	—	—	—	$^{20}/_{30}$	—	—	—	rot klar	„	—	—	—	+	—24	—24 wurzelföl.	—	$^{0}/_{100}$	—	—	—	—	—	—	—	—	—	$^{0}/_{1600}$	$^{200}/_{1600}$	$^{200}/_{3200}$
				29.	—	—	—																									
6	623	—	„	14.	400	100	—	$^{100}/_{2}$	—	—	—	„ „	„	—	—	—	+	—24	—24 wurzelföl.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	$^{100}/_{800}$	$^{200}/_{6400}$	$^{200}/_{1600}$
7	626	—	„					$^{2}/_{500}$	—	—	—	rot. viol.	„	—	—	—	+	—24	—24 wurzelföl.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	$^{0}/_{3200}$	$^{400}/_{6400}$	$^{200}/_{6400}$
8	699	—	flüssig						—	—	—	„ l. „	„	—	—	—	+	—24	—24 wurzelföl.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	$^{0}/_{800}$	$^{200}/_{1600}$	$^{200}/_{3200}$
9	1025	4.	breiig	7.	—	—	—	$^{3}/_{50}$	—	—	—	rot klar	„	—	—	—	+	—21	—18 glatter Kanal	—	$^{0}/_{100}$	—	—	—	—	—	—	—	—	—	$^{0}/_{400}$	$^{200}/_{3200}$	$^{400}/_{6400}$
				11.	—	—	—																									
				17.	—	—	—																									
10	1026	6.	normal	13.	—	—	—	$^{5}/_{200}$	—	—	—	„ „	„	—	—	—	+	—21	—18 glatter Kanal	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	$^{0}/_{800}$	$^{400}/_{12800}$	$^{400}/_{6400}$
11	1043	6.	blutig schleimig	12.	—	—	—	$^{10}/_{50}$	—	—	—	„ „	„	—	—	—	+	—21	—18 glatter Kanal	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	$^{0}/_{3200}$	$^{400}/_{3200}$	$^{800}/_{3200}$
				18.	—	—	—																									
12	1132	9.	„	16.	—	—	—	$^{100}/_{100}$	—	—	—	„ l. viol.	„	—	—	—	+	—24	—24 wurzelföl.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	$^{0}/_{400}$	$^{200}/_{3200}$	$^{200}/_{800}$
13	1144	—	normal	17.	200	—	—	$^{7}/_{200}$	—	—	—	„ klar	„	—	—	—	+	—24	—24 wurzelföl.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	$^{0}/_{1600}$	$^{200}/_{12800}$	$^{400}/_{3200}$
				22.	100	—	—																									
14	1152	4.	dick breiig	9.	—	—	—	$^{100}/_{50}$	—	—	—	„ „	„	—	—	—	+	—21	—18 glatter Kanal	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	$^{0}/_{800}$	$^{200}/_{12800}$	$^{200}/_{3200}$
				14.	—	—	—																									
15	1257	6.	schleimig	9.	—	—	—	$^{100}/_{300}$	—	—	—	„ „	„	—	—	—	+	—21	—18 glatter Kanal	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	$^{0}/_{1600}$	$^{800}/_{12800}$	$^{400}/_{6400}$
				14.	—	—	—																									
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34

Zu Spalte 7: Es wurde zu den Agglutinationen ein Pseudostamm benutzt, der gleichmäßig hoch mit Y- und Flexner-Serum agglutinierte.

Zu Spalte 9: Das Verhältnis der verdächtigen Kolonien zu Coli ist in Bruchform angegeben.

Zu Spalte 19—20: Die Zahlen bedeuten den Tag der Einstellung des Versuchs.

Zu Spalte 22, 32, 33, 34: Das Verhältnis in der Titerhöhe von ungekochten zu gekochten Bakterien ist in Bruchform angegeben.

Literaturverzeichnis.

1. Kolle-Wassermann: Handbuch der pathogenen Mikroorganismen.
2. Kolle-Hetsch: Experimentelle Bakteriologie und die Infektionskrankheiten.
3. Lüdke: Die Bazillenruhr.
4. Porges: Ueber die Beziehungen zwischen Bakterien-Agglutination und Ausflockungserscheinungen der Kolloide (Zentralbl. f. Bakt. Orig. Bd. 40).
5. Hamburger u. Bauch: Untersuchungen über Ruhr II. Beitrag zur Diagnostik inagglutinabler Ruhrstämme. (Berl. Kl. Woch. Nr. 32 1917).
6. Seligmann: Zur Bakteriologie der Ruhr im Kriege (Zentralbl. f. Bakt. Orig. Bd. 79).
7. Kuhn: Zur Lehre von der Parragglutination (Archiv für Hygiene Bd. 86 Heft 4 u. 5).
8. Kruse: Ueber die Veränderlichkeit der Seuchen insbesondere des Typhus und der Ruhr (Münch. Med. Woch. Feldärztl. Beilage Nr. 40, 1917).
9. Schmitz: Ueber einen bisher noch nicht bekannten Krankheitserreger aus der Dysenterie-Gruppe (Münch. Med. Woch. Nr. 49, 1917).
10. Schmitz: Ein neuer Typus aus der Gruppe der Ruhrbazillen als Erreger einer größeren Epidemie (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. 84).
11. Bauch: Ueber inagglutinable Stämme des Bakterium dysenteriae Shiga-Kruse (Zentralbl. f. Bakt. Orig. Bd. 81 1918 Heft 4/5).

Inhaltsverzeichnis.

1. Einleitung.
2. Literaturbesprechung.
3. Vorgeschichte der Arbeit.
4. Biologisches Verhalten der Salasiew-Bakterien.
5. Serologische Prüfung der Stämme gegen bekannte agglutinierende Testsera.
6. Prüfung des antigenen Verhaltens.
7. Bestimmung des Fällungsoptimums.
8. Theorie des Fällungsoptimums.
9. Immunisierung mit lebenden und gekochten Stämmen.
10. Untersuchungen über die Giftigkeit der Bakterien.
11. Beleuchtung der Frage, ob diese Keime als Ruhrerreger anzusprechen sind.
12. Zusammenfassung.
13. Uebersichtstabelle.
14. Literaturverzeichnis.

Lebenslauf.

Am 14. Mai 1891 wurde ich, Otto Georg Gehrmann, katholischer Konfession, als 4. Sohn des verstorbenen Gymnasialprofessors Anton Gehrmann zu Braunsberg in Ostpreußen geboren. Ich besuchte zunächst die Volksschule, dann das Gymnasium meiner Heimatstadt bis zur Sekunda und nach Vaters Tode das Königliche Wilhelms-Gymnasium zu Königsberg in Ostpreußen, an dem ich Ostern 1912 das Reifezeugnis erwarb.

Das erste Semester studierte ich an der Albertus-Universität zu Königsberg Naturwissenschaften und hörte die Vorlesungen folgender Dozenten:

Abromeit, Braun, Klinger, Lühe, Mez.

Zum Wintersemester 1912 bezog ich die Universität Halle-Wittenberg, um neben dem Studium der Botanik, die ich als Hauptfach erwählte, auch landwirtschaftliche Studien zu betreiben. Es waren folgende Herren meine Lehrer:

Böhmer, Disselhorst, Dorn, Henseler, Holdefleiß, Hollrung, Karsten, v. Nathusius, Menzer, Pringsheim, Ruhland, A. Schulz, Scupin, Steinbrück, Taschenberg, Uphus, Vorländer, Walther, Wohltmann.

Bei Kriegsausbruch trat ich als Kriegsfreiwilliger ins Heer ein und machte die Kämpfe im Osten mit, konnte aber seit April 1915 wegen eines schweren inneren Leidens, das ich mir im Felde zuzog, nur noch in der Etappe beschäftigt werden. So war ich seit dieser Zeit in verschiedenen Feldlaboratorien des Ostens als bakteriologischer Mitarbeiter tätig und bin den

Herren Professoren Boehncke, G. Michaelis, Kisskalt und Oberarzt Dr. Hamburger besonders zu Dank verpflichtet, ebenso Herrn Oberarzt Dr. Elkeles.

Allen meinen Lehrern spreche ich hiermit meinen herzlichsten Dank aus.

Einen ganz besonderen Herzenswunsch aber erfülle ich, wenn ich an dieser Stelle auch öffentlich meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Geheimrat Wohltmann, für das ungewöhnliche Interesse und die reiche Förderung danke, die er stets meinem Studium und mir persönlich erwiesen hat.